Revue suisse Zool.	Tome 87	Fasc. 4	p. 927-935	Genève, décembre 1980

Untersuchungen zum Wasseraustausch (mittels ^3H_2O) zwischen Süsswassertieren und ihrer Umgebung

von

B. STREIT

Mit 2 Abbildungen

Abstract

Studies on water turnover in freshwater animals by use of tritiated water.—Tritiated water was used to study water turnover rates in juvenile and adult corixid bugs (*Sigara lateralis* and *S. striata*), in freshwater limpets *(Ancylus fluviatilis)*, and in juvenile whitefish *(Coregonus fera)*. Turnover rates and half times were calculted assuming an exponential function of water exchange, though, in living specimens, slight deviations from a pure one-compartment turnover behaviour were detected. Half times turned out to be about 2.5 min. in limpets (weighing about 8 mg fresh weight), 10 min. in juvenile bugs (0.7 mg), 44 min. in adult female bugs (7.3 mg), and about 145 min. in fish (about 5 g). In dead bugs, lacking blood circulation, half times are longer than in living ones and follow an exact exponential function.

EINLEITUNG

Unter den im Wasser lebenden Tieren besitzen namentlich die Amniota sowie manche Insektenimagines eine für Wasser nur geringfügig permeable Körperbedeckung. Bei den meisten andern ist die Haut mehr oder weniger für Wasser und auch für Salze durchlässig. Es kommt daher bei diesen Tieren zu einem ständigen Wasseraustausch zwischen Umgebung und Tierkörper, wobei die Orte des Austauschs entweder die ganze Körperoberfläche oder nur spezielle Epithelien, wie die Kiemen, sind. Alle Tiere, die respiratorisch den Sauerstoff direkt aus der Wasserphase entnehmen, haben notwendigerweise eine grössere Zone von ungeschützten Epithelien in Kontakt mit dem Wasser. Die Grösse

---

Vortrag gehalten an der Jahresversammlung der SZG in Lausanne, 8.—9. März 1980.

des globalen Wasseraustauschs zwischen Süsswassertieren und dem umgebenden Wasser ist bisher noch kaum unter Verwendung von markiertem Wasser untersucht worden (als ^3H_2O, ^2H_2O oder $H_2{}^{18}O$). Untersuchungen zum Wasseraustausch bei Landtieren (z.B. KING & HADLEY 1979 bei einem Skorpion), bei semiaquatischen Tieren mit einer mehr oder weniger impermeablen Haut (z.B. WALTER & HUGHES 1978 bei einer Möwe, ARLIAN & STAIGER 1979 bei einem Wasserkäfer), bei rein marinen Tieren (z.B. ROESIJADI 1977 bei Krabben) oder reine Permeabilitätsuntersuchungen an Epithelien von Süsswassertieren (z.B. ISAIA *et al.* 1979 an Forellenkiemenepithelien) liegen hingegen schon vor. Diese Untersuchungen sollen hier durch die Bestimmung der Wasser-Turnoverrate einiger Süsswassertiere ergänzt werden, wobei speziell kleine Formen bevorzugt wurden, da diese auch im marinen Bereich noch kaum eine Beachtung gefunden haben.

Die H_2O-Turnoverrate ist für Süsswassertiere eine wichtige Grösse, um

1. die Bedeutung des Wassereinstroms abzuschätzen, der aus osmotischen Gründen stets erheblich ist (PROSSER 1973),
2. weil es sich in anderen Untersuchungen gezeigt hat, dass lipophile organische Pestizide im Wasser oft direkt über die gleichen permeablen Oberflächen in den Tierkörper gelangen und dort angereichert werden können, die auch der Ort des Wasseraustauschs sind (STREIT 1979, GUNKEL 1980, GUNKEL & STREIT 1980). So haben der Wasseraustausch des Tieres mit der Umgebung, sowie die Wasserzirkulation im Tier eine gewisse Indikatorfunktion für die Schadstoffaufnahme und -verteilung im Tierkörper.

Schliesslich aber nimmt in Zukunft als Folge von technischen Kernfusionsprozessen die Abgabe von Tritium (^3H) in den irdischen Stoffkreislauf möglicherweise stark zu, und zwar v.a. als tritiiertes Wasser (QUISENBERRY 1979). Auch aus diesem Grunde sind Kenntnisse über die Geschwindigkeit des ^3H_2O-Turnovers innerhalb von Organismen von Interesse.

MATERIAL UND METHODE

a) *Tiermaterial*

Es wurden 3 Süsswassertierarten aus den Gruppen der Insekten, der Schnecken und der Fische untersucht:

1. die Wasserwanzen *Sigara lateralis* (LEACH), bzw. *Sigara striata* (LINNE).
2. die Flussmützenschnecke *Ancylus fluviatilis* MUELLER,
3. der Sandfelchen *Coregonus fera* JURINE.

Sigara lateralis stammt aus einem Betonteich des Limnologischen Instituts in Konstanz, *S. striata* aus einem Teich in der Nähe von Konstanz (Dettinger Mühlteich). Aufgrund der jahreszeitlich unterschiedlichen Verfügbarkeit wurden Untersuchungen mit Jungtieren (Frischmasse 0,7 ± 0,1 mg) von *S. striata* und mit adulten Weibchen von *S. lateralis* (Frischmasse 7,3 ± 1,5 mg) durchgeführt. Bei *Sigara* erfolgt die Aufnahme von Sauerstoff, wie bei den Corixidae generell, bei Jungtieren vorwiegend direkt aus der Wasserphase über die Haut, bei älteren Tieren aber zu einem zunehmenden Anteil über atmosphärische Luft, die an der Oberfläche jeweils erneuert wird und unter den Deckflügeln und zwischen feinen Körperhaaren auf der Ventralseite festgehalten wird. Die Tiere wurden in 5 l fassenden Glasaquarien gehalten, wo genügend Nahrung zur Verfügung stand. Näheres ist KOPF (1979) zu entnehmen.

Ancylus fluviatilis entstammte ursprünglich einem Bach NW des Bodensees (Krebsbach bei Eigeltingen, vgl. STREIT 1975: Abb. 1), wurde aber vor den Versuchen längere Zeit in 6 m langen künstlichen Fliesswasserrinnen gehalten (STREIT *et al.* 1978) und als Subadultus von etwa 4 mm Schalenlänge und definiertem physiologischem Zustand verwendet. Die Temperatur der Rinnenanlage betrug 13—17° C, der pH-Wert 8,0—8,5, die Fliessgeschwindigkeit 14—22 cm/s. Während der Hälterungsphase stand den Tieren stets genügend Nahrung als Aufwuchs zur Verfügung. Während der Experimente erhielten sie keine Nahrung.

Coregonus fera wurde in 300 1 Wasser fassenden belüfteten Aquarien bei einer Durchflussrate von 2—5 l/min entchlortem Leitungswasser vom ersten Tag nach dem Schlüpfen an gehalten. Der pH-Wert betrug 8,0, die Leitfähigkeit 280 µS, die Alkalinität 3,2 mval/1. Gefüttert wurden Nauplien von *Artemia salina*, später auch lebendes Zooplankton (v.a. *Daphnia pulex*). Die in den Versuchen verwendeten Jungfische hatten ein Alter von annähernd einem Jahr, eine Länge von gegen 9 cm und eine Frischmasse von ungefähr 5 g. Sie wurden vor den Versuchen, die in Wasser der gleichen Zusammensetzung durchgeführt wurden, während einem Tag in Glasaquarien an die Versuchsbedingungen und die Versuchstemperatur von 16° C akklimatisiert. Während dieser Akklimatisationszeit und während des Versuchs selber wurden die Fische nicht gefüttert.

b) *Messmethode*

Die Versuche wurden alle in Glasaquarien durchgeführt (100 ml — Weithalserlenmeyer-Gefässe für die Schnecken und die Wasserwanzen; 5 1-Vollglasbecken für die Fische). Das ^{3}H-markierte Wasser hatte eine spezifische Radioaktivität von etwa 900 000 dpm/ml bei den Untersuchungen mit den Fischen und von 11—19 · 10^6 dpm/ml bei den Untersuchungen mit den Schnecken und den Wasserwanzen. Die Aktivität des Wassers wurde stets zu Beginn und am Ende des Versuchs gemessen. Bei Versuchsende wurden Tierproben so rasch wie möglich verarbeitet, mit einem Solubilizer (Soluene-100 der Firma Packard) aufgelöst und mit einem Scintillationscocktail (Toluol-PPO-Gemisch) versehen. Die Messungen wurden in Plastikzählröhrchen in einem Szintillationszähler durchgeführt. Schnecken und Wasserwanzen wurden in toto aufgelöst und gemessen, Fische wurden zerlegt und als Einzelorgane, bzw. Aliquots von Einzelorganen gemessen. Die Verluste an ^3H_2O während des Versuchsvorgangs wurden getrennt untersucht und entsprechend verrechnet. Sie konnten geringfügig gehalten werden.

c) *Liste der verwendeten Abkürzungen*

c_t	Anteil des ausgetauschten Wassers zur Zeit t, in Bruchteilen des Körperwassers
c_∞	Anteil des ausgetauschten Wassers unter Gleichgewichtsbedingungen, d.h. $c_\infty = 1$
dpm	decays per minute = Zerfälle pro Minute
^3H_2O	tritiiertes Wasser (= "THO")
k	Turnoverrate (= Austauschrate) des Tritium-markierten Wassers. Entspricht näherungsweise der eigentlichen Wasserturnoverrate
ln	Logarithmus naturalis
µS	mikro-Siemens = 10^{-6} Ohm^{-1}
r	Korrelationskoeffizient der einfach-exponentiellen Regression
t	Zeit
T½	Zeitspanne, innerhalb der ein 50%iger Austausch des Tritium-markierten Wassers erfolgt

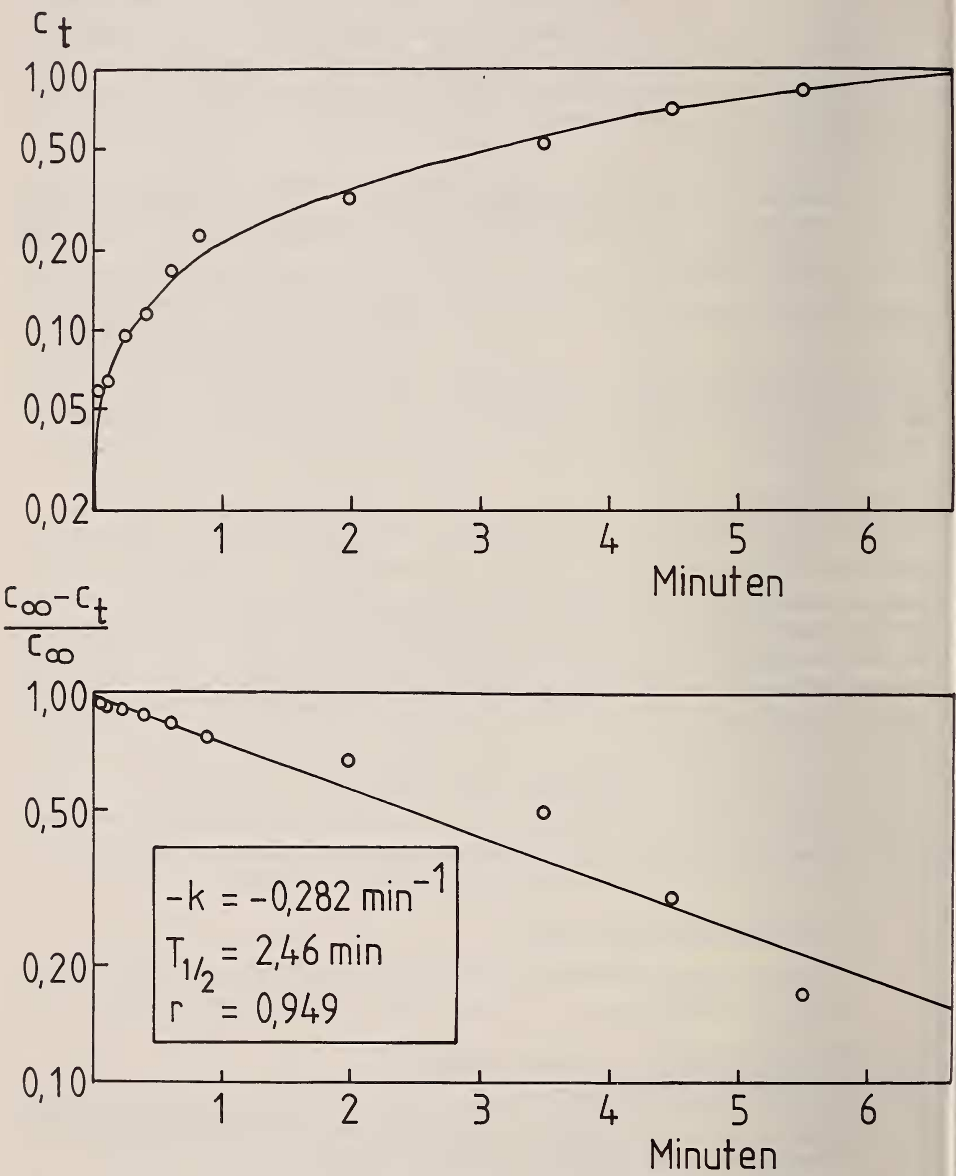


ABB. 1.

Austauschkinetik von ^3H-markiertem Wasser bei *Ancylus fluviatilis.*
a) Ausgetauschter Anteil (c_t) in Abhängigkeit von der Zeit.
b) Linearisierung (vgl. Text).

ERGEBNISSE

Der Wassergehalt der Tiere wurde durch Differenzbildung zwischen dem Frischgewicht und dem nach Trocknen bei 70° C ermittelten Trockengewicht näherungsweise bestimmt. Eine Kontrolle ergab sich aufgrund des Gleichgewichtswertes bei der Untersuchung des ^3H_2O-Gehaltes im Tier (c_∞). Die Werte stimmten innerhalb der Messgenauigkeit miteinander überein. Der prozentuale Wassergehalt, bezogen auf das Frischgewicht, betrug im Mittel für *Sigara* (gemessen an adulten Weibchen von *S. lateralis*) 73,4%, für den Weichkörper von *Ancylus fluviatilis* 83% und für Coregonus fera 82,3%. Die im folgenden genannten Austauschprozesse sind immer auf der Grundlage dieses Wassergehaltes berechnet.

Die in den Tieren nach bestimmten Zeitabständen gemessenen Aktivitäten verliefen stets ungefähr nach dem in der Abbildung 1*a* am Beispiel von *Ancylus fluviatilis* dargestellten Prinzip. Eine Transformierung der Grösse c_t (relative Grösse des Wasseraustauschs zur Zeit t) in die Form

$$\frac{c_\infty - c_t}{c_\infty} \quad (1)$$

(c_∞ = Grösse des Wasseraustauschs unter Gleichgewichtsbedingungen, d.h. $c_\infty = 1$) führte zu einem ungefähr exponentiellen Verlauf, wie das in der Abbildung 1*b* dargestellt ist, d.h. der Ausdruck (1) lässt sich in der Form

$$\frac{c_\infty - c_t}{c_\infty} = e^{-kt} \quad (2)$$

darstellen und die Zeit für die Erneuerung der Hälfte des Körperwassers durch Aussenwasser als

$$T½ = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

berechnen. In einzelnen Fällen, so namentlich bei den Untersuchungen mit Fischen und bei Berechnung der Austauschraten der Organe ergaben sich auch Abweichungen von dieser einfachexponentiellen Form. Für diese Fälle lassen sich wohl durchschnittliche Werte für k und T½ berechnen, doch liegt eine etwas komplexere Kinetik zugrunde.

Bei *Sigara* hängen die Austauschrate k und die Zeit T½ offenbar von der Körpergrösse der Tiere ab (Abb. 2). Allerdings ändert sich hier wohl auch — wie eingangs erwähnt — die Hautpermeabilität, so dass sich zwei Faktoren, die vermutlich in der gleichen Richtung wirken, aufaddieren. Ferner konnte durch Verwendung von frisch mit kochendem Wasser abgetöteten Tieren gezeigt werden, dass der Austausch in diesem Falle langsamer vor sich geht. Das ist zu einem grossen Teil auf die dann ja stagnierende Zirkulation der Körperflüssigkeit und damit reine Diffusion in das Körperinnere zurückzuführen. Hier ergibt sich trotz des flacheren Verlaufs der Kurve (vgl. Abb. 2) die beste Übereinstimmung mit einer reinen exponentiellen Austauschkinetik (höchster Wert für den Korrelationskoeffizienten *r*).

Im Vergleich der insgesamt untersuchten Tierformen ergaben sich die in der Tabelle 1 zusammengefassten Werte für *k* und T½.

Langzeituntersuchungen mit der Schnecke *Ancylus fluviatilis* zeigten, dass der Plateauwert des Austauschs, der aufgrund der statistischen Unsicherheit ab etwa

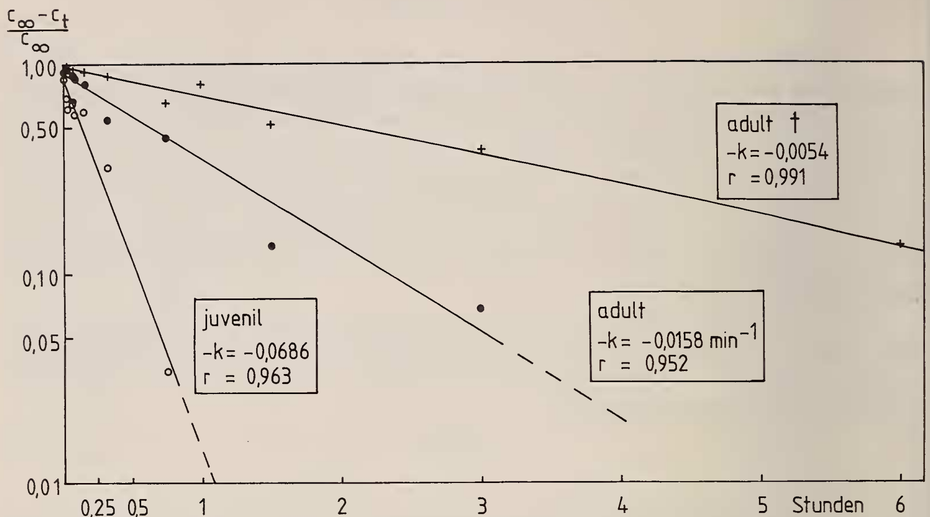


Abb. 2.

Linearisierte Darstellung der Austauschkinetik für Wasserwanzen *(Sigara)*. Von unten nach oben (mit abnehmendem Wert für k): Jugendstadien von *S. striata*, adulte ♀♀ von *S. lateralis*, mit kochendem Wasser abgetötete adulte ♀♀ von *S. lateralis*. Alle k-Werte beziehen sich auf die Dimension [min^{-1}].

10 Minuten voll erreicht ist, über mindestens 24 Stunden gleich hoch bleibt. Tritium steht ja in einem ständigen intensiven Austausch gegen den gewöhnlichen Wasserstoff (^1H), der auch in der organischen Substanz überall vertreten ist. Eine mit dieser Methode messbare "Anreicherung" von Tritium im Tier tritt in dieser Zeit aber nicht auf.

Die Verteilung innerhalb des Tierkörpers wurde beim Fisch näher untersucht. Es zeigte sich, dass das Trinken von Wasser von völlig untergeordneter Bedeutung für den Einstrom von Wasser in den Körper ist. Ein Trinken tritt — wie bei Süsswasserfischen generell (Bentley 1971) — fast nicht auf. Der quantitativ bedeutsamste Wasser-

Tabelle 1.

Mittlere Werte für die Frischmasse, die Austauschrate k und die Zeit für 50% igen Tritiumwasseraustausch (T½).

	Durchschnittliche Masse des Einzeltieres	k	T½
Ancylus fluviatilis	8 mg	0,282 min^{-1} = 16,90 h^{-1}	2,5 min.
Sigara: Jugendstadium	0,7 „	0,069 „ = 4,12 h^{-1}	10,1 „
Sigara: adultes ♀	7,3 „	0,016 „ = 0,95 h^{-1}	43,9 „
Coregonus fera	5000 „	0,005 „ = 0,23 h^{-1}	145 „

umsatz geht an der Kiemenoberfläche vor sich. Markiertes Wasser wird von hier über die Blutzirkulation an die einzelnen Organe und Gewebe geleitet, die jeweils unterschiedliche Wasseraustauschraten zeigen (GUNKEL & STREIT 1980).

DISKUSSION

Die Mehrphasigkeit der ^3H_2O-Kinetik ist eine Folge unterschiedlicher ^3H-Kompartments im Tier. Hier spielen mehrere Austauschprozesse zwischen Organen und Körperflüssigkeiten eine Rolle, sowie die Tatsache, dass das ins Tier gelangende Tritium ein Gleichgewicht zwischen den Wassermolekülen und den organischen Molekülen eingeht. Solche daher mindestens 2-phasig erscheinenden Kinetiken (hier z.B. in der Abb. 2 bei adulten *Sigara* innerhalb der ersten Minuten sehr wahrscheinlich) wurden auch bei Landtieren gefunden (KING & HADLEY 1979).

Eine direkte Beziehung der Turnoverrate *k* zur Körpergrösse innerhalb einer aquatisch lebenden Tierart wurde von SMITH & RUDY (1972) bei der marinen Krabbe *Hemigrapsus nudus* und von HANNAN & EVANS (1973) bei *Limulus polyphemus* gefunden, nicht klar dagegen von ROESIJADI (1977) bei der marinen Krabbe *Pinnixa occidentalis* und von TUCKER & HARRISON (1974) bei einer marinen Muschel. In der vorliegenden Untersuchung mit Sigara tritt diese Beziehung eindeutig auf, lässt sich aber — wie erwähnt — auch anders erklären als durch eine direkte Folge der Körpergrösse.

Beim Vergleich der verschiedenen Tiergruppen ist die Körpergrösse von sekundärer Bedeutung, da die Wasserpermeabilität der Haut, die Grösse von allfälligen dünnhäutigen Hautpartien (Kiemen und andere dünnhäutige Bezirke, z.B. Intersegmentalhäute der Insekten) und die Art der Blutzirkulation im Körper offenbar entscheidender für die Grösse des Austauschs sind.

Werden die eigenen Werte mit Literaturwerten bei andern im oder am Wasser lebenden Tieren verglichen, so zeigt sich, dass die Werte von *Ancylus* und *Coregonus* gut in die gleiche Grössenordnung passen, wie sie von verschiedenen marinen Crustacea bekannt geworden sind (MAETZ 1974, ROESIJADI 1977), d.h. bei jeweils gleicher Körpergrösse liegen sie weitgehend in einem einheitlichen Wertefeld. Die Zeit für 50%igen Wasseraustausch scheint — über alle diese Tiere gemittelt — ungefähr allometrisch mit steigendem Körpergewicht anzusteigen. Dagegen sind die Austauschraten für den semiaquatischen amerikanischen Käfer *Peltodytes muticus* mit einer Masse von etwa 3 mg wesentlich langsamer ($T½ = 6,4$ h; ARLIAN & STAIGER 1979), als sie hier für die gleiche Gewichtsgrösse gefunden wurden. Auch auf Süss- oder Salzwasser gehaltene Möwen der Art *Larus glaucescens*, um ein Beispiel eines Wirbeltieres mit impermeabler Haut zu nehmen, liegen mit einer Turnoverrate von durchschnittlich 6,5 Tagen in beiden Habitaten (WALTER & HUGHES 1978) wesentlich höher als die Tiere mit „permeabler" Haut (Wasserschnecken, Fische, marine Krebse). Sie entsprechen eher — auf vergleichbare Körpergrösse umgerechnet — etwa den Werten des erwähnten Käfers.

Möglicherweise gelingt es schon in kurzer Zeit, hier einige Typen von aquatisch lebenden Tiergruppen zu unterscheiden und ihnen, unter Berücksichtigung der jeweiligen Körpergrösse, typische Wasser-Turnoverraten zuzuschreiben. Landtiere in wasserarmer Umgebung haben anderseits natürlich einen geringeren Wasser-Turnover als im oder am Wasser lebende Formen. So liegt beispielsweise die Zeit für 50%igen Wasseraustausch beim Wüstenskorpion *Hadrurus arizonensis* in der Grössenordnung von mehreren Monaten (KING & HADLEY 1979).

Zusammenfassung

Durch Einsetzen von Süsswassertieren in ^3H-markiertes Wasser wurde der Wasserumsatz an mehreren Tieren gemessen. Junge und adulte Wasserwanzen der Art *Sigara lateralis* und *S. striata*, Süsswasserlungenschnecken der Art *Ancylus fluviatilis* und Felchen der Art *Coregonus fera* aus dem Bodensee wurden in ^3H_2O gesetzt. Nach unterschiedlichen Zeiten wurden die Tiere entnommen, mit einem Solubilizer aufgelöst und im Szintillationszähler gemessen. Die Turnoverraten und die Zeiten für 50%igen ^3H-Austausch wurden berechnet, wobei ein einfach-exponentieller Zeitverlauf angenommen wurde, der allerdings bei den lebenden Organismen nicht genau vorlag. Die Zeiten für den 50%igen Austausch betrugen 2,5 min bei den Schnecken (Frischmasse ca. 8 mg), 10 min bei juvenilen Wasserwanzen (0,7 mg), 44 min bei adulten Wasserwanzen (7,3 mg) und etwa 145 min bei den Fischen (um 5 g). Abgetötete Wasserwanzen folgten recht genau einer einfachen Exponentialfunktion des ^3H_2O-Austauschs, hatten allerdings wesentlich längere Austauchzeiten als lebende.

LITERATUR

Arlian, L. G., T. E. Staiger. 1979. Water balance in the semiaquatic beetle, *Peltodytes muticus. Comp. Biochem. Physiol.* 62A: 1041-1047.

Bentley, P. J. 1971. Endocrines and osmoregulation. *Springer*, *Berlin*, 300 pp.

Gunkel, G. 1980. Die Bedeutung aquatischer Nahrungsketten für die Akkumulation eines Pestizids. Berichte der Tagung « Greifvögel und Pestizide », *Kilda-Verlag.*

Gunkel, G. and B. Streit. 1980. Mechanisms of bioaccumulation of a herbicide (atrazine, s-triazine) in a freshwater mollusc *(Ancylus fluviatilis Müll.)* and a fish (*Coregonus fera* Jurine). Water Research 14: 1573-1584.

Hannan, J. V. and D. H. Evans. 1973. Water permeability in some euryhaline decapods and *Limulus polyphemus. Comp. Biochem. Physiol.* 44A: 1199-1213.

Isaia, J., P. Payan and J.-P. Girard. 1979. A study of the water permeability of the gills of freshwater- and seawater-adapted trout *(Salmo gairdneri) :* mode of action of epinephrine. *Physiol. Zool.* 52. 269-279.

King, W. W. and N. F. Hadley. 1979. Water flux and metabolic rates of free-roaming scorpions using the doubly labeled water technique. *Physiol. Zool.* 52: 176-189.

Kopf, W. 1979. Experimentelle Untersuchungen zur Anreicherung von Lindan (γ — HCH) durch Wasserwanzen der Gattung *Sigara* (Hemiptera, Corixidae). *Diplom-Arbeit*, *Univ. Freiburg i. Br.*, 51 pp.

Maetz, J. 1974. Aspects of adaptation to hypo-osmotic and hyperosmotic environments. In: D. C. Malins, J. R. Sargent (eds.): Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology. Vol. 1: 1-167.

Prosser, C. L. (ed.) 1973. Comparative Animal Physiology. W. B. Saunders Company, 3rd ed. 966 pp.

Quisenberry, D. R. 1979. Environmental aspects of tritium. *Envir. Poll.* 20: 33-43.

Roesijadi, G. 1977. Water turnover rates in the megalopa and crab stages I-V of *Pinnixa occidentalis. Comp. Biochem. Physiol.* 59A: 259-260.

Smith, R. and P. P. Rudy. 1972. Water exchange in the crab Hemigrapsus nudus measured by use of deuterium and tritium oxides as tracers. *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole* 143: 234-246.

STREIT, B. 1975. Experimentelle Untersuchungen zum Stoffhaushalt von *Ancylus fluviatilis* (Gastropoda — Basommatophora). 1. Ingestion, Assimilation, Wachstum und Eiablage. *Arch. Hydrobiol.*/Suppl. 47: 458-514.

— 1979. Uptake, accumulation, and release of organic pesticides by benthic invertebrates. 3. Distribution of ^{14}C-atrazine and ^{14}C-lindane in an experimental 3-step food chain microcosm. *Arch. Hydrobiol.*/Suppl. 55: 373-400.

STREIT, B., J. SCHWOERBEL und W. HOFGÄRTNER. 1978. Eine einfache Rinnenanlage zur Hälterung und Aufzucht von Fliesswassertieren. *Arch. Hydrobiol.*/Suppl. 55: 78-82.

TUCKER, J. S. and F. L. HARRISON. 1974. The incorporation of tritium in the body water and organic matter of selected marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 49A: 387-397.

WALTER, A. and M. R. HUGHES. 1978. Total body water volume and turnover rate in fresh water and sea water adapted glaucous-winged gulls, Larus glaucescens. *Comp. Biochem. Physiol.* 59A: 233-237.

DANK

Der experimentelle Teil dieser Untersuchung entstand in Konstanz (BRD) innerhalb eines Schwerpunktprogramms der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Ausser dem Autor waren bei der Ausführung beteiligt: G. Gunkel, W. Kopf und meine Frau S. Streit.

Adresse des Autors:

Zoologisches Institut der Universität
Rheinsprung 9
CH-4051 Basel/Schweiz